Εμβολιασμός κακοήθων ασθενών με γλατόμα με πεπτίδια-παλμικά δενδριτικά κύτταρα Περιβάλλει τη συστηματική κυτταροτοξικότητα και το ενδοκρανιακό Τ-κύτταρο σε φινίρισμα

Άρθρο στην έρευνα για τον καρκίνο · Μάρτιος 2001

Πηγή: Pubmed

Christopher J Wheeler
Cedars-Sinai Ιατρικό Κέντρο

Paul M Zeltzer

Francesca Incardona
HD Biosciences, Inc.

Mary s riedinger
Cedars-Sinai Ιατρικό Κέντρο

[Cancer Research 61, 842- 847, 1 Φεβρουαρίου 2001]

Προόδους εν συντομία

Εμβολιασμός κακοήθων ασθενών με γλατόμα με πεπτίδια-παλμικά δενδριτικά κύτταρα Περιβάλλει συστημική κυτταροτοξικότητα και ενδοκρανιακή διείσδυση Ť-κυττάρων

John S. Yu, Christopher J. Wheeler, Paul M. Zeltzer, Han Ying, Divina N. Finger, Paul K. Lee, William H. Yong, Francesca Incardona, Reid C. Thompson, Mary S. Riedinger, Wenxuan Zhang, RobertM. PRIN, [2 και]

Keith L. Μαύρο [3]

Maxine Dunitz Neurosurgical Institute, Cedars-Sinai Medical Center, Λος Άντζελες, Καλιφόρνια 90048 [J.S. Υ., C. J. W., P. M. Z., Η. Υ., Δ. Ν. Φ. Σ., P. K. L., W.H. Υ., F. I.R. C. T., Μ. Σ. R., W.Z., R. M. P., Κ. Λ. Β.].και το Τμήμα Νευρολογικής Χειρουργικής, το Πανεπιστήμιο της Καλιφόρνιας, Irvine, Καλιφόρνια 92868-3298 [J.S. Υ., P. M. Z., R. C. T., K. L. B.]

Αφηρημένη

Σε αυτή τη δοκιμή φάσης I, τα δενδριτικά κύτταρα του περιφερικού αίματος των ασθενών ήταν παλλόμενο με πεπτίδια που εκλούονται από την επιφάνεια των αυτόλογων κυττάρων γλοιώματος.Τρεις διηγούμενες ενδοδερμικές εμβολιασμό πεπτιδικών παλμικών δενδριτικών κυττάρων χορηγήθηκαν σε επτά ασθενείς με πολύμορφο γλοιοβλάστωμα και δύο ασθενείς με αναπλαστικό αστροκύτταρο.Ο εμβολιασμός του δενδριτικού κυττάρου προκαλεί συστημική κυτταροτοξικότητα σε τέσσερις από επτά δοκιμασμένους ασθενείς.Η ισχυρή ενδοκοινοτική κυτταροτοξική και η διήθηση Τ-κυττάρων της μνήμης ανιχνεύθηκε δεκαοπτάνημη (CD45RO) Τ-κυτταρική διείσδυση σε περιοχές που μετά τον εμβολιασμό.Αυτή η μελέτη φάσης i κατέδειξε τη σκοπιμότητα, την ασφάλεια και τη βιολογικότητα ενός αυτόλογου εμβολίου τεμαχισμένου πεπτιδίου-παλλόμενου δενδριτικού κυττάρου για ασθενείς με κακοήθη γλολόγο.

Εισαγωγή

Παρά την επιθετική θεραπεία πολυτροπικότητας, η πρόγνωση για το πα-

Οι ασθενείς με κακοήθη γλατόμα είναι κακή.Την τρέχουσα θεραπεία του Γλιχαράστομα, GBM, [4] ... ακολουθείται από

Η ακτινοθεραπεία ή / και η χημειοθεραπεία, έχει ως αποτέλεσμα μια διάμεση επιβίωση μικρότερη του 1 έτους (1). Τα κύτταρα γλοιοβλάστωμα είναι γνωστό ότι είναι κακοί παρουσιαστές αντιγόνου στο ανοσοποιητικό σύστημα, εν μέρει λόγω της μείωσης της ρύθμισης των αποδεικτικών μορίων B7 που απαιτούνται για άμεση ενεργοποίηση κυττάρων όγκου Τ κυττάρων (2, 3). Για να προκληθεί μια αντικαρκινική ανοσοαπόκριση έναντι των γλοιωδών, μπορεί να χρειαστεί επαγγελματίες APC για την αποτελεσματική διαδραματίσουν, τη διεργασία και την παρούσα αντιγόνα γλοιώματος σε Τ κύτταρα (4 - 6). Στην παρούσα μελέτη, το DCS χρησιμοποιήθηκε για την παρουσίαση αντιγόνων αντιγόνου των αντιγόνων γλοιώματος για την παράκαμψη της ανικανότητας των γλοιών να επάγει άμεσα μια απόκριση κυτταροτοξικών Τ-κυττάρων. Τα DCs είναι ισχυρά "επαγγελματικά" APC. Μελέτες διαμάχης έχουν δείξει τη χρήση του Peptide-Pulsed του Peptide του όγκου για την επιτυχή θεραπεία μοντέλων ποντικού μεταστατικού ενδοκρανιακού όγκου (7) και γλοιώματος (8, 9). Αυτή η αναφορά περιγράφει την απόκριση των ασθενών με κακοήθη γλοιώματα σε εμβολιασμό με πεπτίδιο-παλμούς DC. Σε αυτή τη δοκιμή φάσης I, τα περιφερικά βλαστοκύτταρα των ασθενών επεκτάθηκαν πρώτη

Vivo σε DCS και παλλόμενο με πεπτίδια που εκλούστηκαν από την επιφάνεια του

καλλιεργημένα αυτόλογα κύτταρα όγκου του εγκεφάλου.Τρεις διηγούμενες ενδοδερμικές εμβολιασμένες εμβολιασμένες πεπτιδικές παλλόμενες DC χορηγήθηκαν σε επτά ασθενείς με GBM και δύο ασθενείς με αναπλαστικό αστροκύωμα.Τα τελικά σημεία της Im-Munological παρακολούθησης ήταν η συστημική κυτταροτοξικότητα και, όταν έδειξαν κλινικά, ενδοκρανιακή διείσδυση Τ-κυττάρων.Κλινικό άκρο σημεία ήταν τοξικότητα και επιβίωση.Θεωρήσαμε ότι ο εμβολιασμός DC θα δημιουργούσε ειδικά αντιγόνα Τ κύτταρα.Πράγματι, ο εμβολιασμός DC έγινε σημαντική συστημική κυτταροτοξικότητα Τ-κυττάρου έναντι αυτόλογων κυττάρων όγκου γλοιώματος σε τέσσερις από επτά ασθενείς.Προσιοδοτήσαμε να προσδιορίσουμε αν αυτά τα κυτταροτοξικά Τ κύτταρα διατέθηκαν σε ενδοκρανιακό όγκο.Δύο από τους τέσσερις ασθενείς που υποβλήθηκαν σε επανέναρξη για νέες περιοχές βελτίωσης γαδολινίου σε απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (συνεπή με όγκο, νέκρωση ή φλεγμονή) έδειξαν ένα ισχυρό κυτταροτοξικό (CD8) και τη μνήμη (CD45RO) Τ-κυτταρική διείσδυση σε περιοχές του ενδοκρανιακός όγκος.Αυτή η μελέτη φάσης i καταδεικνύει τη σκοπιμότητα, την ασφάλεια και την αντικαρκινική ανοσοκομική δραστηριότητα ενός αυτόλογου εμβολίου Peptide-παλλόμενου DC για κακοήθη γλατόμα.Η συστηματική κυτταροτοξικότητα και η ενδοκρανιακή κυτταροτοξική διείσινη διείσδυση Τ-κυττάρου περιείχαν σε ένα υποσύνολο ασθενών και αυτή η βιολογική δραστικότητα μπορεί να συσχετιστεί με παρατεταμένη επιβίωση σε ασθενείς με γλοιβάσμα.

Υλικά και μέθοδοι

Πληθυσμό ασθενών.Τα κριτήρια ένταξης ήταν μια βαθμολογία Karnofsky 60 ή

Μεγαλύτερη, χαμηλότερη δυνατή δόση συντήρησης γλυκοκορτικοειδούς θεραπείας, καμία αλλεργία σε συστατικά του DCS και κανονικές αιματολογικές παράμετροι βάσης (εντός 1 εβδομάδας πριν από τον πρώτο εμβολιασμό): αιμοσφαιρίνη ¬9.9 g / dl;συνολικά σιταρι-locyte count ¬1000 / L;Count Plate ¬60,000 / L;Καλό ⬍ 30 mg / dl;κρεατινίνη εννέα ⬍ 2 mg / dl;αλκαλική φωσφατάση;ασπαρτική αμινοτρανσφεράση μικρότερη από

δύο φορές το ανώτερο όριο του κανονικού. και ένα χρόνο προθρομβίνης και ενεργοποιημένο μερικό χρόνο θρομβοπλαστίνης όχι μεγαλύτερο από 1,4 φορές έλεγχο, εκτός αν δικαιολογείται θεραπευτικά. Τα κριτήρια αποκλεισμού περιελάμβαναν την εγκυμοσύνη, φοράμη γενική, καρδιακή, ή άλλη συστηματική ασθένεια, σοβαρή ή λειτουργικό κίνδυνο την παρουσία οξείας λοίμωξης που απαιτεί ενεργή επεξεργασία και ιστορικό αυτοάνοσης διαταραχής ή του προηγούμενου ιστορικού άλλων κακοηθών, εξαιρουμένου του βασικού κυτταρικού καρκινώματος καλοήθεις όγκοι. Οι ασθενείς έπρεπε να χρησιμοποιήσουν μια ιατρικά αποδεκτή μορφή ελέγχου των γεννήσεων κατά τη διάρκεια της μελέτης. Υπήρχαν εννέα ασθενείς που εγγράφονται σε αυτή τη φάση, μελετώ: πέντε γυναίκες και τέσσερις άνδρες με ηλικία από 28 έως 77 ετών (μέσο, 49 χρόνια, βλ. Πίνακα 1). Οι ασθενείς με επαληθευμένες ιστολογικές διαγνωστικές διαγνώσεις πρόσφατα διαγνωσμένου αναπλαστικού αστροκυτώματος (δύο ασθενείς) ή GBM (επτά ασθενείς) ήταν επιλέξιμοι για αυτή τη μελέτη. Μετά από χειρουργική εκτομή του όγκου τους, οι ασθενείς ήταν υποχρεωμένοι να συμπληρώσουν μια πορεία εξωτερικής ακτινοθεραπείας δέσμης (τυποποιημένη δόση, 4500 cgy σε όγκο με περιθώρια 3-cm, 1500 cgy ώθηση σε κρεβάτι όγκου). Όλοι οι ασθενείς ήταν εκτός στεροειδών κατά τη στιγμή του εμβολιασμού. Οι 7 ασθενείς με τη μελέτη με GBM συμπεριλήφθηκαν σε ανάλυση επιβίωσης και συγκρίθηκαν με 42 ασθενείς στην ομάδα ελέγχου. Η μέση ηλικία τους ήταν 55,9 14,5 έτη, και το 50% ήταν αρσενικό.Όλα

Από τους ασθενείς είχαν παθολογία όγκων σύμφωνα με το GBM, είχε υποστεί χειρουργική εκτομή στο ίδρυμά μας τα τελευταία 2 χρόνια και είχε ολοκληρώσει μια πορεία ακτινοθεραπείας (60 gy όπως παραπάνω).

Αυτόλογος καλλιέργεια όγκου.Δείγματα όγκων από χειρουργική εκτομή ήταν

Επεξεργασμένο για καλλιέργεια ιστών με μινάξιμο με ψαλίδι και διέρχεται από μεταλλικά μάτια μειώνοντας το μέγεθος του πόρου.Το εναιώρημα κυττάρου στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε φιάλες καλλιέργειας ιστών και αναπτύχθηκε σε DMEM / F10 (Irvine Scientific, Santa ANA, CA) συν 10% FCS (Irvine Scientific) και 1% Penicillin / Streptomycin (Life Technologies, Inc.).Ο προσκολλημένος κυτταρικός πληθυσμός διατηρήθηκε και πέρασε μέχρι το 10

[5] κύτταρα δημιουργήθηκαν.

Έλαβε 5/15/00.αποδεκτή 12/13/00.Το κόστος δημοσίευσης αυτού του άρθρου αναλήφθηκε εν μέρει από την πληρωμή της σελίδας

ταρίφα.Επομένως, το άρθρο αυτό πρέπει να επισημαίνεται στη διαφήμιση σύμφωνα με τις 18 U.S.C.Τμήμα 1734 Μόνο για να υποδείξει αυτό το γεγονός.

1 Υποστηριζόμενη εν μέρει από το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας Grant N502232 (στην J.S.Y.) 2 Παρουσίαση: Τμήμα Ανατομίας, Ιατρικό Κολλέγιο Βιρτζίνια, Ρίτσμοντ,

Βιρτζίνια 23298.

3 Σε ποιους πρέπει να αντιμετωπιστούν οι αιτήσεις για ανατυπώσεις, στο 8631 West Third Street # 800E,

Λος Άντζελες, CA 90048. Τηλέφωνο: (310) 423-0815;Φαξ: (310) 423-0810;E-mail: blackk@cshs.org.

4 Οι συντομογραφίες που χρησιμοποιούνται είναι: GBM, πολύμορφο γλοιοβλάστωμα.APC, αντιγόνο-παρόν-

κύτταρα ·Dc, δενδριτικό κελί.GM-CSF, κοκκουλοκύτταρο-μακροφάγων αποικία διέγερσης.IL, InterleeLukin;PBMC, μονοπύρηνα κύτταρα περιφερικού αίματος.Pha, Phytohemagglo- nin;DTH, καθυστερημένη υπερευαισθησία τύπου.

Πίνακας 1 Χαρακτηριστικά ασθενών

Ασθενής όχι.	Παθολογία του όγκου		Prevaccine rx	Μετά τον εμβολιασμό Rx	Ανεπιθύμητα	Επιβίωση (ημέρες)	Ώρα να εξέλιξη (ημέρες)	Χρόνος Επιπλέον χειρουργική επέμβαση	Intratoumoral Τ κύτταρα	Περιφερειακή CTL
1	A[ένα]	28	Υδροξυουρία	Πολύικός		632				Αρνητικός
2	GBM.	51		Επανορθωτική		Σημασία 1	259	264	Αρνητικός	Θετικός
3	GBM.	48	Γλιαδέλ		Πυρετός, nausea	618				
4	GBM.	49		Επαναπλήρωση, SRT		D463	216	224	Αρνητικός	Θετικός
5	A	30		Πολύικός	Λεμφαδένες	550				Θετικός
6	GBM.	59		Επαναπλήρωση, SRT		455	105	112	Θετικός	Θετικός
7	GBM.	42				574				Προϋπάρπευτος
8	GBM.	55		Επαναπλήρωση, SRT		315	74/222	81/232	Θετικός	Προϋπάρπευτος
9	GBM.	77				300				

ένα AA, αναπλαστικό αστροκύωμα.Gliadel, ενδοκρανιακό 1- (2-χλωροαιθυλ) -3-κυκλοεξυλ-1-νιτροσουρίας.Poly IC, μη ειδική ανοσοθεραπεία.SRT, στερεοτακτική ακτινοθεραπεία.D, ώρα του θανάτου.

Μέθοδοι για το αντιγόνο του όγκου PCR.Το ολικό RNA κυττάρου όγκου απομονώθηκε Χρησιμοποιώντας το κιτ απομόνωσης Trizol RNA (Life Technologies, Inc.) από καλλιεργημένα αυλιωτά κύτταρα γλοιώματος από εννέα ασθενείς με ασθενείς °C του συνδυασμένου με 2 μονάδες DNA. Το συνολικό RNA υπέστη πέψη με 2 μL της DNase I (Ambion) για την απομάκρυνση του γονιδιωματικού DNA.Το RNA μεταγράφηκε με αντιδραστήρια σύνθεσης cDNA (Life Tech-Nologies, Inc.) σε συνολικό όγκο 50 μL με τη χρήση του Oligo (DT) (LIFE Τεχνολογίες, Inc.).Για PCR, 1 Χρησιμοποιήθηκε μL / 50 μL του συνθετικού cDNA με 10 pmol εκκινητές, 1,5 mm mgcl 2, 200 μm Deoxynucleotide Triphos-phate και 0,1 μL της Platinum Taq Polymerase (Life Technologies, Inc.). Οι παράμετροι θερμικής κυκλοποίησης περιλάμβαναν 5 λεπτά στην έναρξη 95 ° C και 35 κύκλοι που περιλαμβάνουν μετουσίωση ... ή 52 ° C (για gp100 και trp-2) για 30 δευτερόλεπτα και επέκταση ... λεπτό.Οι εκκινητές που χρησιμοποιούνται για PCR ... εκκινητές για mage-1, προς τα εμπρός, 5◆-cgctgctgcccctgacgagag-3◆, αντίστροφα, 5◆-aggagagacctag-Gcaggtg-3◆;εκκινητές για gp100, προς τα εμπρός, 5◆-tggctcttgtctca-Gaga-3◆, αντίστροφα, 5◆-aggtgcagtgcttatgact-3◆;εκκινητές για TRP-2, προς τα εμπρός, 5◆-gaggtgcgagccgacacacaag-3◆, αντίστροφα, 5◆-tctg-Tacacacatcacactc-3◆;εκκινητές για β-ακτίνη, προς τα εμπρός, 5◆-Gcaccacctctac-3◆, Αντίστροφη, 5◆-cttctccttaatgtcacg-Cach-3◆.

Απομόνωση των πεπτιδίων που σχετίζονται με το όγκο MHC-I.Mhc-i-από Τα πεπτίδια εμπλουτίστηκαν με έκλουση οξέος όπως περιγράφηκε προηγουμένως (15).Συνοπτικά, 10 8 κύτταρα γλοιώματος απομακρύνθηκαν από πλάκες καλλιέργειας ιστού ... Με 2 mM EDTA σε θερμοκρασία δωματίου, ακολουθούμενη από τρεις πλύσεις με HBSS.Τα κύτταρα επαναιωρήθηκαν σε 10 ml ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικού-φωσφορικού (ρΗ 3,2) για να διαχωριστούν πεπτίδια από την επιφάνεια MHC-I, λειοτριβή απαλά και φυγοκεντρήθηκαν ... 80 ° C. Για 5 λεπτά ... συμπυκνώθηκε με διέλευση από στήλες SEP-PAK C18, κομμένο και ... Ο εμβολιασμός του ασθενούς, το πεπτίδιο όγκου δοκιμάστηκε στην ανάλυση λυσταϊκού λυσταϊκού Limulus (Biowhittaker Inc., Walkersville, MD) για τη μόλυνση ενδοτοξίνης, για αερόβια, αναερόβια και μυκητιακή καλλιέργεια και με λεκέ με το Gram πριν από τη χορήγηση στον ασθενή.

Προετοιμασία αυτόλογων DCS.Το φλεβικό αίμα (20 ml) έλκεται από Ασθενείς τις ημέρες μ7, 7 και 21 (πρώτη 0 μ πρώτος εμβολιασμός).Το αναμενόμενο η απόδοση ήταν 10 6 APCS / 20 mL πλήρες αίμα.Επιπλέον, τραβήχτηκε 50 ml αίματος την ημέρα μ14 για να ληφθεί αυτόλογο ορό (15 ml) για κάθε μία από τις τρεις καλλιέργειες APC.

Οι APC απομονώθηκαν από το πλήρες αίμα με φυγοκέντρηση της υπερκείμενης ... πλένεται τρεις φορές σε PBS και επικαλυμμένο σε συγκέντρωση 5 μ 106 κύτταρα / ml Σε πλήρες μέσο που αποτελείται από RPMI 1640 (Life Technologies, Inc.) με 10% αυτόλογο ορό αδενής θερμότητας, 1% γενταμικίνη και 0,01 M Hepes Buffer.Μετά από 2 ώρες στους 37 ° C, τα μη πρόσφορα κύτταρα απομακρύνθηκαν με έκπλυση με ζεστό πλήρες μέσο.Για τη δημιουργία αυτόλογων DCS, τα προσκολλημένα APCs καλλιεργήθηκαν σε πλήρες μέσο για 7 ημέρες παρουσία ανασυνδυασμένου ανθρώπινου GM-CSF (800 μονάδες / ml, ...) ανθρώπινη IL-4 (500 μονάδες/ ml , Systems R & D, Inc., Minneapolis, MN).

Προετοιμασία και χορήγηση αυτόλογων DCS παλλόμενες με Τυ-Ειδικά ειδικά πεπτίδια MHC-I.Τις ημέρες πριν από κάθε ένα από τα τρία DC εμβολιασμοί (ημέρες μ1, 13 και 27), οι καλλιέργειες DC επωάστηκαν με κιτρικό ... Φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα [0,131 m Na 2HP04 (pH 3.0)] για 1 λεπτό έως ταινίες ενδογενές πεπτίδια από μόρια MHC-I.Τα κύτταρα στη συνέχεια πλύθηκαν σε RPMI 1640 με 10% αυτόλογο ορό ασθενούς συμπληρωμένο με 30 μG / ml αυτόλογου όγκου ... συγκεκριμένα πεπτίδια MHC-I.Τα DCS καλλιεργήθηκαν κατά τη διάρκεια της νύχτας με αυτά τα πεπτίδια σε έναν περιστροφέα στους ... όγκου ... (20 μονάδες / ml) ...

Ειδικά MHC-I Peptide-Pulsed DCS S.C.σε 0,1- 0,2 ml αλατούχου αλατούχου στην περιοχή της δελτοειδούς.Τρεις εμβολιασμοί σε διαστήματα 2 εβδομάδων χορηγήθηκαν σε κάθε ασθενή.

DC φαινοτυπική αξιολόγηση.Μετά την ωρίμανση 7 ημερών στο GM-CSF Και IL-4, τα DCS συλλέχθηκαν από φιάλες.Τα κύτταρα επαναιωρήθηκαν σε RPMI-10% ανθρώπινο ΑΒ μέσο και ακτινοβολήθηκαν με 2500 RAD σε ακτινοβολητή καισίου.Τα υπόλοιπα κύτταρα επαναιωρήθηκαν σε PBS που περιέχει ορό εμβρυϊκού βοοειδούς (2% ο / ο) και χρωματίστηκαν με αντι-CD14 FITC, αντι-HLA-DR φυκοερωθίνη για MHC κατηγορίας II και βιοτινυλιωμένα αντι-CD86 αντισώματα για B7-1 (Pharmingen, Σαν Ντιέγκο, Καλιφόρνια) ... ισότυπα χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες.

Κυτταρική ανάλυση DC. Πολλαπλασιασμός αλλογενικών ... επαναιωρήθηκε σε RPMI-10% ανθρώπινο AB ορό ... Το PBMC (10.000) αναμίχθηκε με περιοριστικές αραιώσεις DCS.Pha (5 μG / ml) Προστέθηκε σε ξεχωριστές καλλιέργειες PBMC ως θετικό έλεγχο.Μόνο το μέσο RPMI-10% AB μόνο προστέθηκε σε ξεχωριστές καλλιέργειες PBMC ως αρνητικό έλεγχο.Όλοι οι πολιτισμοί ιδρύθηκαν εις τριπλούν.Το PBMC υπό 3H-θυμιδίνη (1 μCi / φρεάτιο) προστέθηκε ... επωάστηκαν για 5 ημέρες σε 37 ° C / 5% CO 2 ... Επεξεργασία ... 18 ώρες.Τα κύτταρα συλλέχθηκαν με ένα 96 φρεάτιο Harvester (Tomtec, Hamden, CT) και CPM προσδιορίστηκαν σε ένα μετρητή υγρού σπινθηρισμού Microbeta 1450 Trilux (Wallac, Gaithersburg, MD).

Μέθοδος δοκιμασίας προδρόμου CTL.Για διέγερση, 50 μL ακτινοβολημένου όγκου Κύτταρα σε 1 μ 105 / ml επιδιώκονται σε RPMI 1640 με 10% θερμική Αυτόλογο ορό με 100 μL για 100 ml PBMC στο 1 μ 106 / ml.Il-2 τι προστίθεται για να δώσει μια τελική συγκέντρωση 1000 μονάδων / ml και η πλάκα επωάστηκε στους 37 ° C σε 5% CO 2. Την ημέρα 3 από αφαίρεση 50 μL υπερκείμενου και αντικαθιστώντας το με μέσο με IL-2 (4000 Μονάδες / ml), και την ημέρα 7, 100 ml υπερκείμενου απομακρύνθηκαν και αντικαταστάθηκαν με 10.000 ακτινοβολημένα κύτταρα όγκου σε 1 μ 105 / ml. Οι στόχοι κύτταρων όγκου επισημάνθηκαν για 48 ώρες με 3H θυμιδίνη (2 μCi / ml).Επί Ημέρα 14, οι στόχοι ήταν θρυψινές, πλύθηκαν δύο φορές με HBSS και επαναιωρήθηκαν σε 10.000 κύτταρα / ml.Κύτταρα (100 μL) μεταφέρθηκαν από τις πλάκες της Coculture και προστέθηκε σε μια πλάκα 96 φρεατίων.Επισημασμένα κύτταρα στόχους πάνω από τα διεγερμένα PBMCs και επαναιωρήθηκαν σε ορό RPMI-10% ανθρώπινου AB.Η πλάκα φυγοκεντρήθηκε στα 1000 μ g για 3 λεπτά και επωάστηκαν στους 37 ° C για 5 ώρες.Η μέγιστη απελευθέρωση αξιολογήθηκε σε τριπλού φρεάτια που περιέχουν 10.000 κύτταρα στόχους και 5% SDS σε Η 2Ο και DNase 1 (Roche, Indianapolis, In) στις 20 Μονάδες / ml τελική συγκέντρωση για 10 λεπτά.Τα κύτταρα συλλέχθηκαν με συγκομιδή κυττάρου (Wallac) και η CPM προσδιορίστηκε σε ένα μετρητή σπινθηρισμού Microbeta 1450 Trilux (Wallac).Οι δύο πρώτοι ασθενείς αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας μια δοκιμασία προδρόμου CTL για την ποσοτική ποσοτική συχνότητα των κυτταροτοξικών προδρόμων ανεξάρτητα από εφέ in vitro διέγερσης.Η αδυναμία ανάπτυξης επαρκών αριθμών κυττάρων όγκου για τον υπολογισμό των προδρόμων συχνότητες που απαιτούνται ... αριθμούς κυττάρων όγκου ...

Δοκιμασία κυτταροτοξικής κυτταροτοξικής Τ-κυττάρων.Η δραστηριότητα CTL ... Οι Cellular Technologies ... ανθρώπινη ιντερλευκίνη (Corp., Seattle, WA) και ανασυνδυασμένη ... για να ολοκληρώσουν τις δοκιμασίες ... και αξιολογήθηκαν.PBMC για προεπεξεργασία και μετά την επεξεργασία των χρονικών σημείων απορροφήθηκαν, πλύθηκαν και η συγκέντρωση ρυθμίστηκε σε 8 μ 106 / ml σε μέσο RPMI 1640 Περιέχουν θερμικό ανθρώπινο ορό AB (10%), μη ενδιαφέροντα αμινοξέα (1%), πενικιλλίνη / στρεπτομυκίνη (1%) και 1 M Hepes ρυθμιστικό (1%).Το PBMC διεγείρεται με αλλογενή PBMC (ακτινοβολήθηκε σε 2.000 RAD) ή με αυτόλογο ... κύτταρα όγκου (ακτινοβολήθηκαν με ... 11.000 rad) ... 1 μ 105 / ml ... σε RPMI 5 ... ή 6 ημέρες ... 10 μCi / 5 ml ...

[3H] θυμιδίνη για 48 ώρες στους
37 ° C σε 5% CO 2, μετά από επώαση, κύτταρα στόχους στο H
2ο και επωάστηκαν
Τα μέγιστα φρεάτια απελευθέρωσης λύθηκαν με 5% SDS σε H
DNASE 1 (Roche) σε 20 μονάδες / ml τελική συγκέντρωση για 10 λεπτά.PBMC (100
μέγιστο 1 ✕ 107 / ml για λόγο 100: 1 E: T) προστέθηκαν στους στόχους (100
1 ✕ 105 / ml) σε διάφορες αναλογίες E: T για 6 ώρες.Τα κύτταρα συλλέχθηκαν από πλάκες με
ένα συγκομιδή 96 φρεατίων (Tomtec).CPM προσδιορίστηκαν
χρησιμοποιώντας ένα μετρητή υγρού σπινθηρισμού Microbeta 1450 Trilux (Wallac).

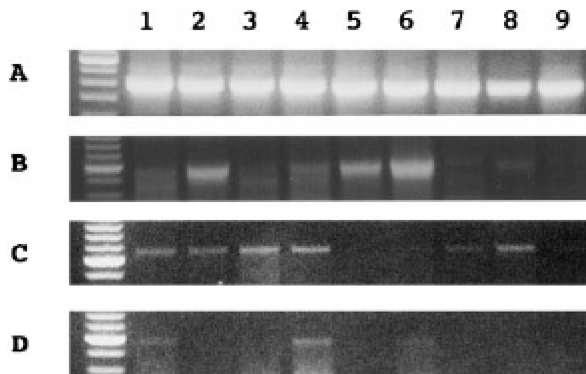
Ανοσοϊστοχημεία.Σειριακό 10- ✕M τμήματα παραφίνης του χειρουργικού-
Το Tracranial Specimen όγκου χρωματίστηκε με αντιπαρανικά
μονοκλωνικά αντισώματα του ποντικού
έναντι CD8 (C8 / 144b κλώνο M7103 σε 1/25 αραίωση), CD45RO
(OPD4 κλώνο M0834 σε αραίωση 1/50), CD20 (L26 κλώνο M0755
σε 1/200) καιCD56 (T199 κλώνος M0852 σε 1/10 αραίωση. Dako Corp.,
Carpiteria, CA).Τα πρωτογενή αντισώματα ανιχνεύθηκαν χρησιμοποιώντας το σύστημα βιοτίνης υπεροξειδάσης (Dako Corp.).

Στατιστική ανάλυση.Οι συνεχείς μεταβλητές συγκρίθηκαν με τη χρήση του φοιτητή
t δοκιμή και οι κατηγορικές μεταβλητές συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας ✕2 ή ακριβή δοκιμή του Fisher.
Π ⬍ 0,05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

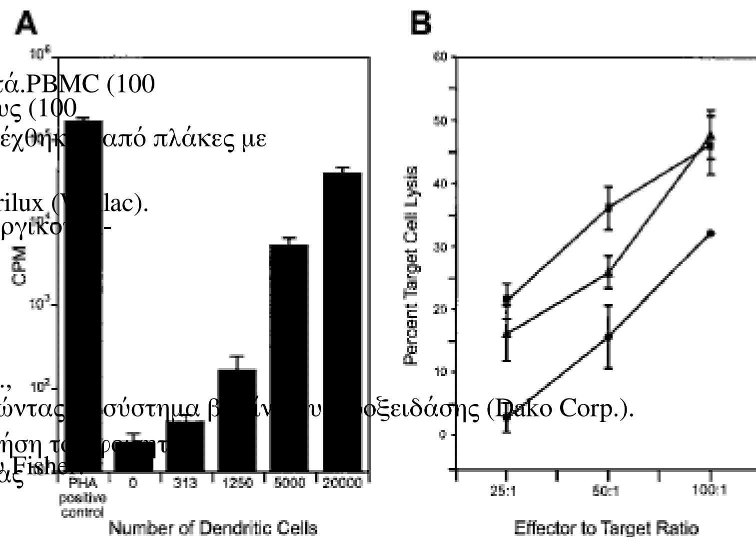
Αποτελέσματα

Χαρακτηρισμός αυτολογικών κυττάρων όγκου.Οι όγκοι των ασθενών
και ο χειρουργικός ιστός χρησιμοποιήθηκε για
την καθιέρωση αυτόλογων κυτταρικών γραμμών
γλοιώματος.Τα κύτταρα πέρασαν 7-12 φορές για να λαμβάνουν περίπου 10 εκατομμύρια κύτταρα. Ο κύτταρα.Τα πεπτίδια που σχετίζονται με το MHC-I που προσδέθηκαν από αυτές τις γραμμές
ήταν εμπλουτίστηκαν μέσω της έκλουσης οξέος.Η
ανάλυση του καρυότυπου διαμορφώθηκε
σε επτά αυτόλογες καλλιέργειες όγκου από
επτά ασθενείς μελέτες.Έξι ασθενείς είχαν γλοιοβλάστωμα
και ένας ασθενής είχε αναπλαστικό
αστρο-κυτόμο.Τουλάχιστον 20 κύτταρα αναλύθηκαν
από τις καλλιέργειες καθενός από
αυτούς τους ασθενείς.Από τους έξι ασθενείς
με γλοιοβλάστωμα, πέντε ασθενείς
είχαν ανώμαλο καρυότυπο σε όλα τα κύτταρα
που μελετήθηκαν.Τέσσερις από αυτούς
τους καρυοί
τύπους εμφάνισαν κέρδος χρωμοσώματος 7. Ένας ασθενής με γλοιοβλάστωμα και ένας ασθενής με αναπλαστικό αστροκύτταρο έδειξε φυσιολογικούς καρυότυπους.Οι κυτταρικές σειρές από εννέα ασθενείς μελέτες χαρακτηρίστηκαν για γενετικούς πολλαπλασιασμούς.

Οι εκκινητές ✕-ακτίνης σχεδιάστηκαν για να ανιχνεύουν το γονιδιωματικό DNA
μεταγραφάσης για τον προσδιορισμό της έκφρασης mRNA των αντιγόνων που σχετίζονται με όγκο που περιγράφηκαν αρχικά στο μελάνωμα.ο
φτερό.Το προϊόν PCR από το cDNA είναι 394 bp.Το προϊόν
PCR από το γονιδιωματικό üNA πρέπει να είναι
835 bp.Το Σχ. 1A υποδηλώνει ότι το παρασκεύασμα
RNA ήταν απαλλαγμένο από γονιδιωματική μόλυνση
DNA.Τέσσερις από εννέα ασθενείς εκφράζουν
MAGE-1 σε καλλιεργημένα κύτταρα γλοιώματος (Σχήμα
1B).Έξι από εννέα ασθενείς κατέδειξαν έκφραση
GP100 (Σχήμα 1c) και τρεις ασθενείς κατέδειξαν
έκφραση TRP-2 (Σχήμα 1D).Συνολικά, τα κυτταρικά
κύτταρα γλοιωμένου ύψους οκτώ από εννέα
ασθενείς εκφράζουν τουλάχιστον ένα αντιγόνο που σχετίζεται με όγκο.Η κυτταρομετρία ροής των κυττάρων καλλιέργειας αυληνοθέτη όγκου
αποκάλυψε ότι στους τέσσερις από εννέα ασθενείς που ήταν θετικά με PCR για το αντιγόνο Mage-1, σχεδόν κάθε κύτταρο, που ανασυνδυάστηκε για
την πρωτεΐνη Mage-1 (δεδομένα δεν παρουσιάζονται).



Εικ. 1. Ανάλυση του αντιγόνου που σχετίζεται με το όγκο mRNA αντιγράφων σε καλλιεργημένα κύτταρα όγκου
από ασθενείς με γλολόγο.Το ολικό κύτταρο όγκου RNA απομονώθηκε
και η αντίστροφη μεταγράφηκε σε cDNA.Η PCR διεξήχθη χρησιμοποιώντας ειδικούς γονιδιακούς εκκινητές για A,
✕-ακτίνη;B, mage-1;NTO.
Gp-100;και D, TRP-2.

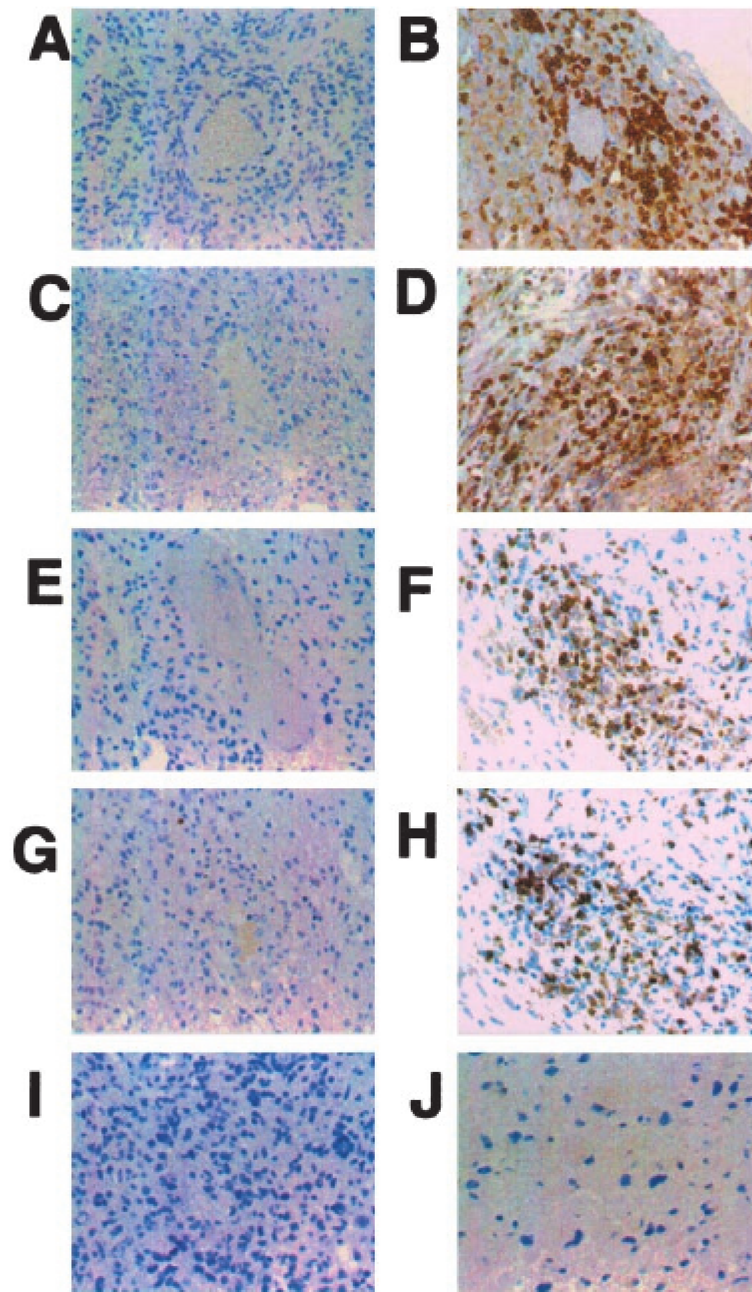


Εικ. 2. A, Αλλαμιοποίηση DC.Ακτινοβολημένα DCS στις υποδεικνυόμενες
συγκεντρώσεις με 1 ✕ 105 αλλογενή PBMC / ml σε μέσο και επωάστηκαν για 5
έως 5 ms / ml, προστέθηκαν στο 5
μέρες.Ο πολλαπλασιασμός αξιολογήθηκε με την ενσωμάτωση [3H] θυμιδίνης από PBMC μετά από 18
ώρες
της πρόσθετης επώασης.Το γράφημα απεικονίζει τη δραστικότητα
DC από έναν ασθενή πριν από την παρασκευή του εμβολίου.B,
Η κυτταροτοξικότητα.Το PBMC συλλέχθηκαν από
ασθενείς πριν και μετά από χορήγηση πεπτιδίου DC / όγκου
και διεγείρωσαν in vitro για 6 ημέρες με ακτινοβολημένα αυτόλογα κύτταρα
όγκου παρουσία 10 μονάδων / ml IL-2.Η δραστικότητα CTL προσδιορίστηκε
με ειδικό κατακερματισμό.
3H] - Απελευθερωμένο DNA σε αυτόλογους στόχους
ανάλογα χρησιμοποιώντας διάφορες αναλογίες E: T.Το γράφημα
απεικονίζει τη δραστικότητα CTL από τον ασθενή 5 πριν
από την εμβολιασμό (F), καθώς και 6 εβδομάδες (œ) και 12 εβδομάδες (F)
μετά την τελευταία από τις τρεις τελευταίες χορηγήσεις πεπτιδίων DC / όγκου.

Απομόνωση και χαρακτηρισμός DCS.Τα μονοπύρηνα κύτταρα ήταν
Απομονωμένη από φυγοκέντρηση βαθμίδωσης Ficoll
και διαφοροποιήθηκε σε DCS παρουσία
IL-4 και GM-CSF.Αυτοί οι επαγγελματίες APC εξέφρασαν
υψηλά επίπεδα MHC κατηγορίας II και του
εγγυητικού μορίου B7-1 και την απουσία δεικτών
για ώριμα μονοκύτταρα (CD14, δεδομένα δεν δείχνονται).Σε όλους τους
ασθενείς, μεγαλύτερο από το 70% των κυττάρων εμφανίζουν (φαινότυπο DC:
✕, B7-1✕ και CD14✕.Ολοι-
Οι δοκιμασίες χρησιμοποιώντας μια καθορισμένη αντίδραση ανάστροφης
Τα γονίδια DNA στα απομονωμένα DCS ήταν λειτουργικά
(Εικ. 2A) και οι επαρκείς αριθμοί λειτουργικών DCS απομονώθηκαν σε όλους
τους ασθενείς σε αυτή την κλινική δοκιμή (10
6 DCs / εμβόλιο
.Αυτά τα DCs ήταν κοκτέιλ με αυτόλογο πεπτίδιο
όγκου, πλύθηκαν και χορηγήθηκαν σε ασθενείς
τρεις φορές κατά τη διάρκεια 6 εβδομάδων.

Ασφάλεια της αυτόλογης χορήγησης DC.Δεν υπήρχαν σοβαροί
ανεπιθύμητες ενέργειες ή κλινικές ή ακτινολογικές
ενδείξεις αυτοάνοσης αντίδρασης
σε οποιονδήποτε ασθενή (Πίνακας 1).Ο ασθενής
3 ανέπτυξε έναν ήπιο πυρετό (100 ° F) που διαρκεί
Η κυτταροτοξικότητα.Ο ίδιος
ασθενής ανέπτυξε ναυτία και έμετο ενώ έπαιρνε Dilantin για 2 εβδομάδες.Ο
ασθενής 5 αναπτύχθηκε ψηλά υπερπλήρωση, μασχαλιαία και βουβωνικός
λεμφαδένας 1 εβδομάδα μετά τον πρώτο εμβολιασμό, ο οποίος συνέχισε για 2
μήνες.

Ανάπτυξη συστημικής κυτταροτοξικότητας.Ένας στόχος αυτού του κλινικού
Η δοκιμή ήταν να προσδιοριστεί εάν η εξάρτηση της
DCS DCS και η EXIVO σίγουρη από το DCS σε ένα
αντιγόνο όγκου που σχετίζεται με το MHC-I από
αυτόλογα καλλιεργημένα κύτταρα γλοιώματος
θα μπορούσε να προκαλέσει ανοσοαπόκριση
έναντι των μελανθρωπικών γλαγγιών. Η
κυτταροτοξικότητα που κατευθύνεται προς
τα αυτόλογα κύτταρα όγκου αξιολογήθηκε σε PBMC
από τον επακόλουθο των ασθενών, 1 εβδομάδα
μετά από κάθε εμβολιασμό και 6 και 12 εβδομάδες
μετά τον τελευταίο εμβολιασμό. Από επτά
ασθενείς που αξιολογήθηκαν, τέσσερις αποδεδειγμένες
ενισχυμένες κυτταρικές T-κυττάρων
T-κυττάρου μετά από εμβολιασμό DC. Σε όλους τους ασθενείς που ανέπτυξαν
δραστικότητα κυτταροτοξικού T-κυττάρου, η κυτταροτοξικότητα διατηρήθηκε
μέχρι του τελευταίου χρονικού σημείου, 3 μήνες μετά τον τελευταίο εμβολιασμό
(Εικ. 2b). Σε δύο ασθενείς (2 και 4) η κυτταροτοξικότητα ανιχνεύθηκε 12
εβδομάδες μετά τον τελευταίο εμβολιασμό. Ένας ασθενής με το αναπλαστικό
αστροκύτωμα είχε φαινομενική εξάλειψη του όγκου όπως προτείνεται από το
Οι ασθενείς 7 και 8 επιδεικνύουν
κυτταροτοξικότητα πριν και μετά τον εμβολιασμό. Ο ασθενής 1 δεν είχε
διακριτή δραστικότητα CTL πριν ή μετά τον εμβολιασμό.



Οι περιοχές της βελτίωσης του γαδολινίου
σε σαρώσεις απεικόνισης μαγνητικού συντονισμού
υποβλήθηκαν σε επανεξέταση μετά τον
τρίτο εμβολιασμό DC (Πίνακας 1, ασθενείς 2, 4, 6 και 8).Δύο από αυτούς τους τέσσερις ασθενείς ανέπτυξαν ένα ισχυρό CD8
Κυτταροτοξική και CD45RO διείσδυση Τ-κυττάρων μνήμης

Σε περιοχές όγκου (ασθενών 6 και 8) που δεν ήταν
εμφανές σε δείγμα όγκου που ελήφθη πριν από τον
εμβολιασμό (Σχήμα 3, Α-Η). Υπήρχαν επίσης αυξημένα CD4
Βοηθητικά Τ κύτταρα μετά τον εμβολιασμό αλλά
σημαντικά μικρότερη από CD8
Τ-κύτταρα (δεδομένα που δεν παρουσιάζονται).Ένα απ' αυτά
Οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε δύο αποεπεξεργασίες,
το πρώτο πριν από τον εμβολιασμό και το
δεύτερο στις 94 ημέρες μετά τον πρώτο εμβολιασμό
(ασθενής 8).Σε αυτόν τον ασθενή, το δείγμα του όγκου μετά τη δεύτερη επαναλειτουργία (μετά την εμβολιασμό) έδειξε ιδιαίτερη ενδοκρινική διείσδυση από το CD8
Κυτταροτοξικά Τ κύτταρα και CD45RO
Κύτταρα Τ, σε σύγκριση με
δείγματα όγκων πριν από τον εμβολιασμό (Εικ. 3, A-D).Δεν
υπήρχε CD20
κύτταρα ή CD56 ° CS ανιχνεύσιμα πριν ή μετά

σε οποιονδήποτε ασθενή (δεδομένα που δεν δείχνονται).Αντίθετα,
δύο άλλοι ασθενείς
που υποβλήθηκαν σε επανεξέταση για μια επαναλαμβανόμενη μάζα με
γκανγκλιακό (ασθενείς 2 και 4) εμφάνισαν λίγες διείσδυση CD45RO
Cd8, CD45, CD20+ ή CD56 κύτταρα σε χειρουργικά δείγματα που
ελήφθησαν
πριν ή μετά τον εμβολιασμό (δεν εμφανίζονται
δεδομένα).Και οι δύο αυτοί ασθενείς πέθαναν
από την εξέλιξη του όγκου.Ομοίως,
δεν υπήρχε αύξηση του αριθμού των ενδομητικών
λεμφοκυττάρων σε δείγματα από τέσσερις μη εμβολιασμένους ασθενείς με
GBM που υποβλήθηκαν σε επανεκκίνηση.Όλοι οι τέσσερις μη εμβολιασμένοι
ασθενείς έδειξαν λίγα cd45ro
και CD8 T
Κύτταρα από το πρώτο χειρουργικό δείγμα τους,
το οποίο μειώνονται σε αριθμό σε δείγματα επανεξέτασης
(Εικ. 3, Ι και J). Υπήρχαν πολύ λίγοι CD20
Β κύτταρα στο πρώτο και το δεύτερο δείγματα, και χωρίς CD56 NK
τα κύτταρα ανιχνεύθηκαν είτε σε δείγμα.Έτσι,
ενισχυμένο κυτταροτοξικό (CD8
) Φαίνεται ότι η διείσδυση Τ-κυττάρων και μνήμης (CD45RO)
να είναι ένα χαρακτηριστικό ενός υποσύνολο εμβολιασμένων
ασθενών που υποβάλλονται σε επανεξέταση.

Ο εμβολιασμός DC σχετίζεται με παρατεταμένη επιβίωση.Μια γούνα-
Στόχος αυτής της μελέτης ήταν να προσδιοριστεί
η κλινική απόκριση στον εμβολιασμό DC.Υπήρχαν
7 ασθενείς στην ομάδα μελέτης και
42 ασθενείς στην ομάδα ελέγχου με πρόσφατα
διαγνωσμένο GBM που αντιμετωπίστηκαν στο ίδρυμα
μας.Έλεγχος ασθενών υποβλέπουν από
την Κρανιοτομία με τους ίδιους χειρουργούς
με την ομάδα μελέτης και την εξωτερική ακτινοθεραπεία
της ακτινοβολίας των 60 gy με ή χωρίς
χημειοθεραπεία.Συναντήθηκαν όλα τα κριτήρια εγκλεισμού της δοκιμής
ανοσοθεραπείας DC, συμπεριλαμβανομένης της βαθμολογίας Karnofsky, αλλά
αντιμετωπίστηκαν πριν από το άνοιγμα της δοκιμής (εντός 2 ετών) ή επέλεξαν
να μην συμμετάσχουν.Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ
των ομάδων μελέτης και ελέγχου για την ηλικία (54,4
13,5 έτη, ομάδα μελέτης,
έναντι 55,9
14,5 έτη, ομάδα ελέγχου.P
0,79), το φύλο (42%
Αρσενικό, ομάδα μελέτης, έναντι 50% αρσενικού, ομάδα ελέγχου.Π
0,67), και
Ποσοστό ασθενών με ακαθάριστη συνολική απομάκρυνση
του όγκου που ενισχύει το γαδολινίο (71%, ομάδα μελέτης, έναντι 58%,
ομάδα ελέγχου , p
0,68).
Οι μέσοι χρόνοι επιβίωσης για τις ομάδες μελέτης
και ελέγχου ήταν 455 και 257 ημέρες, αντίστοιχα.

Συζήτηση

Οι προηγούμενες ανοσοθεραπευτικές θεραπείες για τους όγκους του
εγκεφάλου έχουν
σε παθητικές, υιοθετημένες και μη ειδικές
στρατηγικές και έχουν αποφέρει ασαφύτερα
οφέλη (12). Η ενεργή στρατηγική ανοσοθεραπείας
που χρησιμοποιεί εμβολιασμούς
DC που αναφέρθηκε εδώ θα μπορούσε να είναι
πιο αποτελεσματική έναντι κακοήθους γλοιώματος
από τις προηγούμενες στρατηγικές.
Η ενεργή ανοσοθεραπεία απαιτεί τη
χορήγηση ενός αντιγονικού στόχου. Τα πεπτίδια
που σχετίζονται με το MHC-I εκλούστηκαν
από καλλιεργημένα αυτόλογα κύτταρα
γλοιώματος. Τα καλλιεργημένα αυτολογικά
κύτταρα όγκου χαρακτηρίστηκαν για τρία αντιγόνα
που σχετίζονται με όγκους: TRP-1, MAGE-1
και GP100. Τα μελανοκύτταρα και τα γλυκά κύτταρα
προέρχονται εμβρύωνα από νευρικό έκτοδομο.
Οι μεταμορφωμένες μεταποιημένες αντίστοιχες
έχουν αποδειχθεί ότι μοιράζονται κοινά
αντιγόνα. Το MRNA αντιγόνο που σχετίζεται
με το μελάνωμα (13) και η πρωτεΐνη (14) έχουν
περιγραφεί στα κύτταρα του γλοιώματος. Οκτώ
από τις εννέα
κυτταρικές σειρές που προέρχονται από ασθενείς
μελετών κατέδειξαν έκφραση τουλάχιστον
ενός από αυτά τα αντιγόνα που σχετίζονται
με όγκους. Η έκφραση αντιγόνων που σχετίζεται με όγκους σε αυτολογικές
κυτταρικές καλλιέργειες όγκου υποδηλώνει ότι αυτές οι γραμμές προέρχονται
από το γλοιό και όχι από τα φυσιολογικά νευρικά κύτταρα ή ινοβλάστες,
επειδή αυτοί οι ιστοί σπάνια ή ποτέ δεν εκφράζουν αντιγόνα που σχετίζονται
με μελάνωμα (13). Ο μη φυσιολογικός καρυότυπος παρατηρήθηκε σε πέντε
από επτά καλλιεργημένες κυτταρικές σειρές από ασθενείς μελέτες,
υποδηλώνοντας περαιτέρω ότι αυτά τα κύτταρα ήταν κύτταρα όγκου. Η συχνή
έκφραση αυτών των αντιπαραθέσεων που σχετίζονται με τον όγκο στις
κυτταρικές γραμμές που προέρχονται από το γλολόγο σημεία σε πιθανούς
αντιγονικούς στόχους σε αυτούς τους όγκους. Ένας στόχος αυτής της κλινικής

δοκιμής ήταν να προσδιοριστεί εάν η ωρίμανση ex νίνο των DCS και η έκθεση DCS σε ένα αντιγόνο όγκου που σχετίζεται με το MHC-I από αυτόλογο καλλιεργημένο κύτταρο γλοιώματος θα μπορούσε να προκαλέσει μια απόκριση [illegible] γλοιώματος. Ότι τέσσερα από επτά δοκιμασμένα

Εικ. 3. Ανοσοϊστοχημικός χαρακτηρισμός κυττάρων διηθήσεως σε ενδοκρανιακό όγκο Κατά την πρώτη χειρουργική επέμβαση, πριν από τον εμβολιασμό (αριστερή στήλη) και κατά την επανεξέταση, μετά τον εμβολιασμό (δεξιά στήλη):A, CD45RO χρώση μνήμης T-κυττάρων πριν από τον εμβολιασμό στον ασθενή 8.ΣΙ, Cd45ro χρώση μετά τον εμβολιασμό στον ασθενή 8.C, ασθενής 8 πριν από τον εμβολιασμό CD8 Κύτταρα.D, ασθενής 8 μετά τον εμβολιασμό CD8 Κύτταρα.E, ασθενής 6 πριν από τον εμβολιασμό Cd45ro Κύτταρα.F, ασθενής 6 μετά από εμβολιασμό CD45RO κύτταρα.G, ασθενής 6 πριν Εμβολιασμός CD8 Κύτταρα.H, ασθενής 6 μετά από εμβολιασμό CD85 κύτταρα.Εγώ, ελέγξτε τον ασθενή Cd8 κύτταρα κατά την πρώτη λειτουργία.J, ελέγξτε τα κύτταρα CD85 ασθενών κατά την επανεξέταση.(Magnifica-τράβηγμα 400).

Οι ασθενείς σε αυτή την πιλοτική δοκιμή έδειξαν ανοσολογικές αποκρίσεις κυτταροτοξικών Τ κυττάρων μετά από τον εμβολιασμό του πεπτιδίου-παλμικής DC να υποστηρίξει τον ρόλο του εμβολιασμού DC στη δημιουργία ειδικής

ανοσίας.Η σχέση μεταξύ της περιφερικής δραστηριότητας CTL και της απόρριψης του όγκου δεν έχει καθοριστεί χωρίς αμφιβολία από την παρούσα ή από προηγούμενες δοκιμές (15-18).Δεν ήταν γνωστό αν τα περιφερικά κυτταροτοξικά Τ κύτταρα θα μπορούσαν να στοχεύσουν τον όγκο μετά τον εμβολιασμό DC.Σε ορισμένες δοκιμές ανοσοθεραπείας, οι συστηματικές κυτταροτοξικές αποκρίσεις απέτυχαν να αποτρέψουν την ανάπτυξη του όγκου στο κεντρικό νευρικό σύστημα (19, 20).Παρατηρήσαμε μια dra-matic intratoumoral διείσδυση του CD45RO

Μνήμη και CD8

Τα κυτταροτοξικά Τ κύτταρα μετά τον εμβολιασμό σε δύο από τους τέσσερις ασθενείς που είχαν υποβληθεί στην επανάληψη της βελτίωσης του γαδολινίου στην απεικόνιση μαγνητικής επένδυσης που υποδηλώνει τον επαναλαμβανόμενο όγκο, ενώ οι μη εμβολιασμένοι ασθενείς δεν εμφάνισαν παρόμοια διείσδυση.Έτσι, αποδεικνύουμε ότι ο εμβολιασμός DC μπορεί να προκαλέσει ανιχνευτή ενδομυώματος Τ-κυττάρων, παρά την ανοσολογική προνομιακή κατάσταση του κεντρικού νευρικού συστήματος.Όλοι οι τέσσερις ασθενείς που υποβλήθηκαν σε επανεξέταση καταδεικνύουν είτε προϋπάρχουσα είτε νέα συστημική κυτταροτοξικότητα in vitro.Η μελέτη της έκφρασης του όγκου των αντικαταστάλτικών κυτοκινών ή των δεικτών κυτταρικής επιφανείας μπορεί να διαδεθεί στους παράγοντες που διαφοροποιούν τους ασθενείς που θα αναπτύξουν συστηματική κυτταροτοξικότητα.Την παρουσία του CD8

Τ κύτταρα και απουσία CD20 Β κύτταρα στο

Ο ενδοκρανιακός όγκος των εμβολιασμένων ασθενών είναι σύμφωνος με την πρόθεση μιας απόκρισης μιας TH1- και όχι μιας απόκρισης με τη μεσολάβηση Th2 με πεπτιδικά παλλόμενα DCS, αν και άλλες εναλλακτικές λύσεις περιλαμβάνουν προτιμησιακή μετακίνηση / επιβίωση των Τ κυττάρων.Intracranial CD8

Έχει γίνει διείσδυση

που σχετίζονται με τον εμβολιασμό σε ενεργά μοντέλα ανοσοθεραπείας σε ποντίκια (9, 21).Η ισχυρή ενδοσυνδεδεμένη διείσδυση του CD45RO

Τ κυττάρων

Προτείνει την επαγωγή που προκαλείται από το εμβόλιο ενεργοποιημένων Τ κυττάρων με συγκεκριμένες ιδιότητες διαστολής και / ή επί τόπου.Σε μια δοκιμή ανοσοθεραπείας DC για μελάνωμα, CD45RO

Τα κύτταρα Τ κυττάρων θεραπευθέντα

Διατηρείτε έντονα τις θέσεις DTH, καθώς και τις μεταστάσεις στην παλινδρόμηση.Επιπλέον, σημαντικά CD8

Η διείσδυση σημειώθηκε να υποχωρήσει

Νασάζες.Σε μια ξεχωριστή κλινική δοκιμή, ο εμβολιασμός ασθενών καρκινώματος νεφρικών κυττάρων με υβρίδια κυττάρων-κυττάρων έδειξε εκτεταμένη διείσδυση DTH που διεισδύθηκαν με CD8

Κύτταρα Επαγωγή, η ενδοκρανιακή διείσδυση

Απάντηση ασθενών με κακοήθη γλολόγς καθρέφτη Η περιφερική απόκριση σημειώθηκε για την υποκατάσταση όγκων μελανώματος και σε θέσεις DTH των ασθενών καρκινώματος νεφρικών κυττάρων μετά τον εμβολιασμό DC. Η απουσία διείσδυσης του όγκου των κυττάρων Β και ΝΚ στην παρούσα δοκιμή υποδηλώνει ότι τέτοια αποτελέσματα

περιορίζονται σχετικά στο διαμέρισμα Τ-κυττάρων. Αυτό υποδηλώνει ότι το DCS σε αυτή τη μελέτη μπορεί να ενεργοποιήσει κατά προτίμηση να ενεργοποιήσει αντιγονικά ειδικά κύτταρα Τ, αντί των ΝΚ κύτταρα, όπως περιγράφεται σε διαφορετικές in vitro μελέτες (22). Ο εμβολιασμός DC ασθενών με γλόλομο φαίνεται να είναι ασφαλές και δεν σχετίζεται με την αυτοανοσία. Σε αυτή τη δοκιμή φάσης I, οι εμβολιασμοί DC ήταν καλά ανεκτικοί. Οι ήπιες τοξικότητες περιελάμβαναν παροδικό πυρετό, ναυτία και έμετο σε έναν ασθενή και την ανάπτυξη των ψηλών λεμφαδένων σε έναν άλλο ασθενή. Μέχρι σήμερα, με διάμεση παρακολούθηση 455 ημερών, δεν εντοπίστηκαν κλινικά ή ακτινολογικά χαρακτηριστικά αυτοάνοσης ασθένειας στους ασθενείς μας. Κλινικές δοκιμές που χρησιμοποιούν ανοσοθεραπεία DC έχουν δημοσιευθεί για τέσσερις άλλους καρκίνο: λέμφωμα (15). Μελάνωμα (16). καρκίνο του προστάτη (17); και καρκίνωμα νεφρικού κυττάρου (18). Σε αυτές τις μελέτες εμβολίου DC, έχουν αναφερθεί ήπιος πυρετός και οίδημα ενός εγχυμένου λεμφαδένου που διαρκεί 1-2 ημέρες (16). Δεν αναφέρθηκαν άλλες σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες που περιλαμβάνουν αυτοανοσία σε δοκιμές χρησιμοποιώντας ανοσοθεραπεία DC (15-18) ή σε ζωικά μοντέλα θεραπείας του εγκεφαλικού όγκου με εμβολιασμό DC (7-9). Έτσι, ο εμβολιασμός DC στον όγκο δεν έχει συσχετιστεί με σημαντική αυτοανοσία. Από την άλλη πλευρά, η επαγωγή της θανατηφόρας πειραματικής αλλεργικής εγκεφαλοκολυελίτιδας έχει περιγραφεί σε πρωτεύοντα ινδικά χοιρίδια μετά τον εμβολιασμό με ιστό ανθρώπινου γλιοβλαστώματος (23). Η συνεχής αξιολόγηση θα χρειαστεί

Προσδιορίστε εάν η αυτοανοσία αναπτύσσεται από διασταυρούμενη αντιδραστικότητα μεταξύ αντιγόνων όγκων του εγκεφάλου και των φυσιολογικών νευρικών αντιγόνων. Οι ασθενείς με GBM που υποβλήθηκαν σε αγωγή με εμβολιασμό DC φαίνεται να έχουν παρατεταμένη επιβίωση σε σύγκριση με τους ασθενείς που είχαν εκπληκτική θεραπεία. Όταν οι ασθενείς μελετών συγκρίθηκαν με ασθενείς με GBM, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε παρόμοια με ενδοκρανιακά στοιχεία θεραπεία στο ίδρυμά μας, φάνηκε να υπάρξει παράταση στην επιβίωση των ασθενών μελετών. Παρόλο που δεν υπήρξε διαφορά σε αυτές τις ομάδες σε σχέση με την ηλικία, το φύλο ή τον βαθμό εκτομής, μια προκατάληψη επιλογής δεν μπορούσε να αποκλειστεί. Αν και ο αριθμός των ασθενών στην ομάδα μελέτης ήταν μικρή, η επιβίωση υποδηλώνει ότι αυτή η μορφή ενεργού ανοσοθελούμενου μπορεί να είναι μια ελπιδοφόρα προσέγγιση. Οι ασθενείς με τη μελέτη με γλοιοβάσκωμα χωρίστηκαν σε αναδρομικές τάξεις καταμερισμού ογκολογίας ακτινοβολίας (ROG). Αυτή η τεχνική επιτρέπει τη σύγκριση των αποτελεσμάτων με βάση τις παραμέτρους κλινικών και ιστολογικών στρωματοποίησης. Τρεις ασθενείς με GBM στη μελέτη μας ταξινομήθηκαν στην κατηγορία RTG V με

50 ετών και

Karnofsky αποτελέσματα απόδοσης ≥ 90. Αυτοί οι ασθενείς είχαν ένα διάμεσο

Η επιβίωση του 19,1 μήνες σε σύγκριση με τα δεδομένα RTG 18 μήνες για αυτή την κατηγορία. 175 ασθενών. Τέσσερις ασθενείς με GBM 50 ετών είτε με επιβίωση ή ≥ 50 και ανεπάρκεια ή αδυναμία επιστροφής στην εργασία.Αυτή η ομάδα ασθενών είχε μια διάμεση επιβίωση 11,6 μηνών σε σύγκριση με τους ασθενείς της κατηγορίας V (n = 395) με διάμεση επιβίωση 9 μηνών.Εξαιτίας

Ο μικρός αριθμός ασθενών μελέτης σε κάθε μία από αυτές τις κατηγορίες, η στατιστική ανάλυση δεν μπορούσε να γίνει.Ωστόσο, οι ασθενείς σε αυτή τη μελέτη υπερέβαιναν την αναμενόμενη επιβίωση σύμφωνα με την ανάλυση αυτή.Παρά την παράταση της επιβίωσης σε αυτή την ανάλυση καθώς και στην ανάλυση επιβίωσης σε σύγκριση με τους ασθενείς με GBM που έλαβαν θεραπεία στο ίδρυμά μας, η δυνατότητα προκατάληψης των ασθενών θα εξαλειφθεί μόνο με μια τυχαιοποιημένη δοκιμή.Η συσχέτιση του ενδοκρανιακού CD8

διείσδυση Τ-κυττάρου και sur-

Ο Vival έχει δημιουργηθεί σε ένα ενεργό μοντέλο ανοσοθεραπείας της ενδοκρανιακής μετάστασης (25).Ενεργή ανοσοθεραπεία με εμβόλια DCS ή TU- MOR για πειραματικό ενδοκρανιακό γλοίωμα έχουν δείξει μια ένωση του CD8

Intratoumoral διείσδυση και παρατεταμένη sur-

vival (9, 21).Η ενισχυμένη διάμεση επιβίωση των ασθενών που εγγράφονται σε αυτή τη μελέτη υποδηλώνει ότι η ενεργοποίηση του όγκου Τ-κυττάρων, διείσδυση και / ή λειτουργία μπορεί να παρατείνει την επιβίωση των ασθενών με γλατόμα.Μελέτες φάσης II που χρησιμοποιούν ανοσοθεραπεία DC βρίσκονται σε εξέλιξη για περαιτέρω διαιτητοποίηση των επιδράσεων του εμβολιασμού DC σε ασθενείς με κακοήθη γλατώματα και για να επιβεβαιώσουν την επίδρασή του στην επιβίωση.Αυτή η στρατηγική ανοσοθεραπείας φαίνεται να υποσχεθεί ως μια προσέγγιση για την επιτυχή επάγετε μια αντικαρκινική ανοσοαπόκριση και να αυξήσει την επιβίωση σε ασθενείς με γλοιώματα.

Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Πρόστιμο, Η. Α., Αγαπητέ, Κ. Β., Loeffler, J. S., Μαύρος, Ρ. Μ., Και Canellos,
Γ. Ρ. Μετα-ανάλυση της ακτινοθεραπείας με και χωρίς ανοσοενισχυτική χημειοθεραπεία για κακοήθηΓλυλιώματα σε ενήλικες.Καρκίνος (Φίλα), 71: 2585-2597, 1993.
2. Satoh, J., Lee, Υ. Β., Και Kim, S. U. Τ κυττάρων Cell Cellululy μόρια B7-1 (CD80) και B7-2 (Το CD86) εκφράζεται σε ανθρώπινες μικρογκλίες αλλά όχι σε αστροκύτταρα στον πολιτισμό.Brain Res., 704: 95-96, 1995.
3. Lampson, L. A., Wen, P., Ρωμαϊκή, V. A., Morris, J. H., And Sarid, J. διάδοση κυττάρων όγκου και τους αλληλεπιδράσεις με λευκοκύτταρα που απεικονίζονται στον εγκέφαλο.Καρκίνο ΑΠΕ., 52: 1018-1025, 1992.
4. Σταθερή, S., Sant'Angelo, D., Pasqualini, T., Taylor, T., Levin, D., Flavell, R., και D. K. Πεπτίδιο και πρωτεϊνικά αντιγόνα απαιτούν διακριτά άτομα που παρουσιάζουν αντιγόνα για την εκκίνηση του CD4 Τ κύτταρα.J. Immunol., 154: 4915-4923, 1995.
5. Levin, D., Constant, S., Pasqualini, T., Flavell, R., και Bottomly, K. Ρόλος δενδριτικών κυττάρων στην εκκίνηση του CD4 λεμφοκύτταρα σε πεπτίδιο αντιγόνο ίη νίνο.J. Immunol., 151: 6742- 6748, 1993.
6. Steinman, R. Το δενδριτικό κυτταρικό σύστημα και ο ρόλος του στην ανοσογονικότητα.Άννα.Αναθ. Immunol., 9: 271-996.1991.
7. Ashley, D. M., Faiola, B., Nair, S., Hale, L. P., Bigner, D. D., και Gilboa, E. Μελού των οστών που παράγονται τα δενδριτικά κύτταρα που παράγονται από το μυελό των οστών που παλμών με εκχυλίσματα όγκου την προκαλούμενη αντοχή του όγκου RNA κατά των όγκων του κεντρικού νευρικού συστήματος.J. Εχρ.Med., 186: 1177-1182, 1997.

8. Siesjo, P., Visse, E., Και Sjogren, H. O. Θεραπεία καθιερωμένων, ενδοεγκεφαλικά
γλοιών αρουραίων που προκαλούνται από θεραπευτικές
ανοσοποιήσεις με κύτταρα όγκου και καθαρισμένο APC ή ανοσοενισχυτικό IFN-
θεραπεία. J. Invunother. Έμφαση Immunol., 19: 334-45, 1996.
9. Liau, L. M., Μαύρο, K. L., Prins, R. M., Skys, S. N., Dipatre, P. L., Cloughesy, T. F., Becker,
D. P.Και το Bronstein, J. M. Θεραπεία των ενδοκρανιακών γλοιών
με τα δενδριτικά κύτταρα που προέρχονται από μυελό
των οστών παλλόμενες με αντιγόνα όγκου.J. Neurosurg., 90: 1115-1124, 1999.
10. Zitvogel, L., Mayordomo, J., Tjandrawan, T., Deleo, A. B., Clarke, M. R., Lotze, M. T., και
Storkus, W. J. Tight, και Storkus, W. J. Κυτταρικά κύτταρα με
πεπτίδια όγκου: εξάρτηση από T κύτταρα, B7 Costization και T
βοηθητικές κυτταρικές κυτταρικές
κυτταροκινούμενες. J. Exp. Med., 183: 87-97, 1996. 11. Matzinger, P. Μια
απλή δοκιμασία για κατακερματισμό
üNA και κυτταρικό θάνατο. J. Immunol. Μέθοδοι, 145:
185-192, 1991. 12. Zeltzer, P. M., Moilanen, B., Yu, J. S., και μαύρος, K. L. Ανοσοθεραπεία
κακοήθων εγκεφάλων όγκων σε παιδιά και ενήλικες.
Παιδικό νευρικό. Syst., 15: 514 -528, 1999. 13. Chi, D. D., Merchant, R. E.,
Rand, R., Conrad, A. J., Garrison, D., Turner, R., Morton , D. L., και hoohn, D. S. μοριακή
ανίχνευση αντιγόνων όγκου-συσχέτισης που μοιράζονται
από ανθρώπινα
δερματικά μελανώματα και γλοιώματα. Είμαι. J. Pathol.,
150: 2143-2152, 1997. 14. Κουραμότο, T. Ανίχνευση αντιγόνου όγκου
MAGE-1 στον όγκο του εγκεφάλου. Kurume med. J.,
44: 43-51, 1997. 15. HSU, F., Benike, C., Fagnoni, F., Λίλι, T. M., Czerwinski, D., Taidi, B., Engleman,
E. g ., Και εισφορά, R. εμβολιασμός ασθενών με λέμφωμα
B-κυττάρων χρησιμοποιώντας αυτόλογα
αντιγόνα-παλμικά δενδριτικά κύτταρα. Nat. Med., 2: 52-58,
1996. 16. Nestle, F. O., Alijagic, S., Gilliet, M., Sun, Y., Grabbe, S., Dumper, R., Burg, G., και
ο Schadendorf, Δ. Εμβολιασμός ασθενών με μελανώματος με λυστάκι
πεπτιδίου ή όγκου-παλμικά δενδριτικά κύτταρα. Nat. Med., 4: 328 -332, 1998. 17. Tjoa, B. A., Simmons, S. J., Bowes, V. A., Radge, J., Rogers, M.,
Elgamal, A., Kenny , G. M., Cobb, O. E., Ireton, R. C., Troychak, M. J., Salgaller, M. L., Boynton, A. L., και Murphy, G. P. Αξιολόγηση του Κλινικές
δοκιμές φάσης I / I στον καρκίνο του προστάτη με δενδριτικά κύτταρα και πεπτίδια PSMA. Prostate, 36: 39 - 44, 1998.

18. Kugler, A., Stuhler, G., Walden, Π., Zoller, G., Zobywalski, A., Brossart, P.,
Trefzer, U., Ullrich,
S., Muller, C., Becker, V ., Ακαθάριστο, A., Αμιμελεΐνη, B., Kanz, L., Muller,
G., και Ringert, R. παλινδρόμηση του ανθρώπινου μεταστατικού
καρκίνωμα νεφρικού κυττάρου μετά τον εμβολιασμό
με υβρίδια κυττάρων-δενδριτικού κυττάρου όγκου.
Nat. Med., 6: 332-336, 2000. 19. Grooms, G. A., Eliber, F. R., και Morton, D. L.
αποτυχία
της ανοσοθεραπείας
ανοσοενισχυτικού να αποτρέπουν τις μεταστάσεις του
κεντρικού νευρικού συστήματος σε κακοήθεις ασθενείς
μελάνωμα. J. Surg. ONCOL., 9: 147-153, 1977. 20. Μίτσελ, M. S. υποτροπή
στο κεντρικό νευρικό σύστημα σε ασθενείς μελάνωμα
επιτυχία που αντιμετωπίζονται πλήρως με
βιομοδευτές. J. Clin. Oncol., 7: 1701-1709, 1989. 21. H
Herringling, U., Kramm, C. M., Johnston, K. M., Louis, D. N., Finkelstein, D.,
Reznikoff, G., Dranoff
, G., Breakefield, X. O., και Yu, J. S. Εμβολιασμός για πειραματικά
γελιγανάσματα που χρησιμοποιούν κύτταρα όγκου
κοκκιοκυττάρων-μακροφάξεων-διέγερσης.
Καρκίνος γονίδιο., 4: 345-352, 1997. 22. Fernandez, N. C., Lozier, A., Flament, C.,
Ricciardi-Castagnoli, P., Bellet, D., Suter, M., Perricaudet, M., Turzt, T., Maraskovsky,
E., Και Zitvogel, L. Dendritic κύτταρα, ενεργοποιηστε
άμεσα τις λειτουργίες των κυττάρων NK: Cross-talk σχετική
σε έμφυτη αντι-όγκου ανοσοαπόκριση ίη νίνο. Nat. Med., 5: 405-411,
1999. 23. Bigner, D. D., PITTS, O. M., And Wikstrand, C. J. Επαγωγή της
θανατηφόρου
πειραματικής αλλεργικής εγκεφαλομυελίτιδας
σε
μη ανθρώπινα πρωτεύοντα και ινδικά χοιρίδια με ανθρώπινα
γελοιογράμματα Blastoma mulfiforme ιστού. J. Neurosurg., 55: 32-42,
1981. 24. Curran, W. J., Scott, C. B., Horton, J., Nelson, J. S., Weinstein, A. S.,
Fischbach, A. J., Chang, C. H., Rotman, M., Asbell, S. O., Krisch, R. E., Και
Nelson, D. F. Αναπροσαρμογή ανάλυση των προγνωστικών παραγόντων σε
τρεις ακτινοθεραπεία σε- Cology Group κακοήθεις δοκιμές γλοιώματος. J. Natl.
Καρκίνος Inst. (Bethesda), 85: 704 -710, 1993. 25. Sampson, J. H., Archer, G. E.,
Ashley, D. M., Fuchs, H. E., Hale, L. P., Dranoff , G., και Bigner, D. D. O
υποδόριος εμβολιασμός με ακτινοβολημένα, κυτταρικά κύτταρα που
παράγουν κυτοκίνη διεγείρουν CD8
Ανοσία με τη μεσολάβηση κυττάρων έναντι όγκων
Ανοσολογικώς προνομιακό κεντρικό νευρικό
σύστημα. Proc. Natl. Acad. Sci. USA.